T 细胞里没测到 CD4，能直接把它归为 CD8 T 细胞吗?

从公开 CITE-seq 的同条码 RNA 与抗体计数判断 CD4 阴性读数的含义，分层核对 T 谱系、库深度、蛋白背景与证据不足的类别。



运行教学示例

Python 3.10 或以上和 requirements.txt。随包已经包含真实配对计数，从原始 RNA 和 ADT 重新提取的脚本亦在包内。

```
python run.py --input example --out results
```

在解压后的资料包根目录运行。example 是教学输入，results 保存本次输出，expected 保存可供核对的参考结果。

输入字段

paired_counts.tsv 8,617 个实际条码，含人鼠分开的深度、十二个 RNA 标记和三个抗体信号。

settings.json、source_hashes.json 三档小鼠阴性背景阈值、正文采用的档位和原文件校验值。

核对输出，再换自己的数据

gates.tsv、background_thresholds.tsv 物种筛选、T 谱系候选和每个蛋白在各分位数上的背景阈值。

cell_evidence.tsv、RNA_surface_cross.tsv、depth.tsv 逐条码证据、六组交叉统计、深度分层结果及抗体与 RNA 比较图。

用示例验算

1 人 RNA 占比至少九成的有 8,005 个，小鼠对照 579 个，人 T 候选 3,395 个。

2 主阈值下 2,941 个 CD4 RNA 为零者分别为 1,547 个仅 CD4、344 个仅 CD8、15 个双阳性和 1,035 个均未过线。

3 低深度组 CD4 RNA 为零为 1,509/1,700，高深度组为 1,432/1,695。

换用真实数据

先检查条码对应与人鼠对照设计，使用本实验的背景控制，保留两种抗体都高、都低与未测模态。每个独立供者另做分层。

抗体超过示例阈值属于表面信号证据，无法直接充当细胞身份真值。数据来自脐血，此处的 RNA 和蛋白阈值不可原样移用于其他组织。

方法资料

CITE-seq 配对原始研究

Seurat 多模态脐血教程